UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1951-1952 — N° 69

Recherches Expérimentales sur la Biologie des Amibes du genre "Entamaeba"

Travail du Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le Lundi 26 Mai 1952

par

Louis, François, Marie CARLOZ
né le 9 Juin 1925 à TANANARIVE (Madagascar)

Élève de l'École Principale du Service de Santé de la Marine et des Troupes Coloniales
Diplômé de Biologie appliquée à l'Éducation Physique et aux Sports
Diplômé de Médecine Tropicale
Certifié de Médecine Aéronautique

Examinateurs de la Thèse :
MM. SIGALAS, professeur, *Président*
MAYER, professeur
MOUSTARDIER, maître de conférences, agrégé
PAUTRIZEL, maître de conférences, agrégé
Juges

BORDEAUX
IMPRIMERIE SAMMARCELLI FRÈRES
80 bis, Cours de l'Argonne

1952

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1951-1952 — N° 69

Recherches Expérimentales sur la Biologie des Amibes du genre "Entamaeba"

Travail du Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le Lundi 26 Mai 1952

par

Louis, François, Marie CARLOZ

né le 9 Juin 1925 à TANANARIVE (Madagascar)

Élève de l'École Principale du Service de Santé de la Marine et des Troupes Coloniales
Diplômé de Biologie appliquée à l'Éducation Physique et aux Sports
Diplômé de Médecine Tropicale
Certifié de Médecine Aéronautique

Examinateurs de la Thèse

MM. SIGALAS, professeur, *Président*
MAYER, professeur
MOUSTARDIER, maître de conférences, agrégé
PAUTRIZEL, maître de conférences, agrégé
Juges

BORDEAUX
IMPRIMERIE SAMMARCELLI FRÈRES
80 bis, Cours de l'Argonne

1952

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYENS HONORAIRES : MM. DUPÉRIÉ, CHELLE
DOYEN : M. PORTMANN. — **ASSESSEUR :** M. SIGALAS

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. A. MANDOUL, GUYOT, ANDÉRODIAS, ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES, LEURET, PÉRY, LABAT, CHARRIER, DUBREUIL, MACHEBŒUF, CRUCHET, DUPERIE, CHELLE

PROFESSEURS :

	MM.
Clinique médicale	N... / CREYX
Clinique chirurgicale	PAPIN / MASSÉ
Clinique d'accouchements.	RIVIÈRE
Clinique gynécologique...	MAGENDIE
Anatomie pathologique et microscopie clinique	DE GRAILLY
Anatomie	N...
Anatomie générale et histologie	MAYER
Hygiène et Clinique de la tuberculose	PIÉCHAUD
Médecine légale et médecine du travail	DERVILLÉE
Electroradiologie et Clinique d'électricité médicale	REBOUL
Chimie	N...
Matière médicale	GOLSE
Pharmacie	VITTE
Physiologie	FABRE
Clinique médicale des maladies des enfants.	FONTAN
Zoologie et parasitologie.	SIGALAS

	MM.
Médecine expérimentale..	N...
Clinique ophtalmologique.	BEAUVIEUX
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie....	N..
Clinique des maladies infectieuses	N...
Chimie biologique et médicale	TAYEAU
Physique médicale et pharmaceutique	PIFFAULT
Médecine coloniale et Clinique des maladies exotiques	BONNIN
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques. .	JOULIA
Clinique des maladies des voies urinaires.	DARGET
Clinique des maladies nerveuses et mentales	DELMAS-MARSALET
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN
Toxicologie et hygiène appliquée	CASTAGNOU
Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ
Botanique et cryptogamie.	GIRARD
Thérapeutique	BROUSTET

PROFESSEUR A TITRE PERSONNEL

MESNARD (Pharmacie)

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

MM. PERRENS (Maladies mentales), DUFOUR (Anatomie)
BLANQUET (Physique pharmaceutique)

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :

	MM.
Parasitologie	PAUTRIZEL
Physiologie	Mlle ROUGIER
Bactériologie	MOUSTARDIER

	MM.
Pharmacie (1re section)...	R. GOLSE
Pharmacie (2e section)...	MASQUELIER
Pharmacie (3e section)....	CAZAUX

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.
Médecine générale	SARIC / DUBARRY / F.-J. TRAISSAC / BERGOUIGNAN / LENG-LEVY
Chirurgie générale	POUYANNE / LAUMONIER / CHAVANNAZ
Chimie biologique	N...
Obstétrique	MAHON / CHASTRUSSE

	MM.
Ophtalmologie	BESSIERE
Oto-rhino-laryngologie....	DESPONS
Dermatologie et syphiligraphie	LE COULANT
Histologie	N...
Pédiatrie et puériculture.	VERGER
Médecine légale et médecine du travail...	L'ÉPÉE
Electro-radiologie	LACHAPÈLE
Odonto-stomatologie	MARONNEAUD
Urologie	LANGE

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.
Médecine opératoire	DUFOUR
Accouchements	CHASTRUSSE
Puériculture	VERGER
Législation pharmaceutique	POPLAWSKI / COUSTOU
Anatomie	RIGAUD
Chimie minérale	BABIN
Cryptogamie	LAUBIE

	MM.
Pharmacie galénique	MESNARD
Organographie et physiologie végétale	TEMPÈRE
Chimie biologique	NEUZIL
Pathologie chirurgicale	LAUMONIER / VILLAR
Zoologie pharmaceutique..	BAILENGER
Hydrologie pharmaceutique	CAZAUX
Chimie biologique analytique	MARQUEVIELLE

Le Secrétaire de la Faculté : ROUGERIE

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

À LA MÉMOIRE DE MES CAMARADES

DU 1er GROUPE D'ARTILLERIE DU LEVANT

TOMBÉS AU CHAMP D'HONNEUR.

A MA MÈRE, A MON PÈRE

En témoignage de ma profonde affection.

A MA FIANÇÉE MONIQUE CARLIER

Interne des Hôpitaux de Strasbourg.

AU DOCTEUR ET A MADAME P. CARLIER

A MES FRÈRES ET SŒURS

A TOUS LES MIENS

À MES MAITRES DE LA FACULTÉ
ET DES HOPITAUX DE STRASBOURG

A MES PROFESSEURS DE L'ECOLE DE SANTÉ NAVALE

A MES CAMARADES DE L'ECOLE DE SANTÉ NAVALE

A MES CAMARADES DU LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE

A MONSIEUR LE MÉDECIN GÉNÉRAL
DE 2e CLASSE GALIACY

Directeur de l'Ecole Principale du Service de Santé
de la Marine et des Troupes Coloniales,
Commandeur de la Légion d'Honneur,
Croix de guerre,
Médaille de la Résistance.

A MONSIEUR LE MÉDECIN EN CHEF
DE 1re CLASSE SIMON

Sous-Directeur de l'Ecole Principale du Service de Santé
de la Marine et des Troupes Coloniales,
Médecin des Hôpitaux maritimes,
Officier de la Légion d'Honneur,
Officier d'Académie,
Médaille d'argent de l'Education physique.

A MES MAITRES DE LA FACULTÉ
ET DES HOPITAUX DE BORDEAUX

A NOS JUGES :

DOCTEUR R. PAUTRIZEL

Maître de Conférences agrégé,
Docteur ès Sciences,
Chef de Laboratoire au Centre de Prophylaxie Antivénérienne,
Croix de guerre,
Officier d'Académie.

Qui nous a inspiré ce travail et dont les conseils nous ont été précieux.
Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

DOCTEUR G. MOUSTARDIER

Maître de Conférences agrégé,
Médecin des Hôpitaux Coloniaux,
Chevalier de la Légion d'Honneur,
Médaille de la Résistance Française,
Médaille Coloniale,
Médaille des Epidémies.

Hommages très respectueux.

MONSIEUR LE PROFESSEUR G. MAYER

Professeur d'Histologie et d'Embryologie,
Officier d'Académie.

Hommages très respectueux.

A NOTRE PRESIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR SIGALAS.

Professeur de Zoologie et de Parasitologie,

Directeur honoraire de la Station biologique d'Arcachon,

Chevalier de la Légion d'Honneur,

Croix de guerre,

Officier de l'Instruction publique.

MON CHER MAITRE,

Vous m'avez accordé votre confiance en m'accueillant dans votre Laboratoire. Que ce travail soit le modeste témoignage de ma respectueuse gratitude et de ma profonde admiration.

INTRODUCTION

Ces organismes sont des Rhizopodes, c'est-à-dire des Protozoaires pourvus d'un appareil locomoteur et constitués par un protoplasme et un noyau. Ils ne possèdent pas de membrane proprement dite et, de ce fait, peuvent être comparés à une goutte d'huile sur de l'eau.

Ce sont des Protozoaires de la famille des **Amachidae,** appartenant au genre **Entamaeba.** Ces amibes possèdent une biologie qui leur est propre et qui se manifeste par les fonctions élémentaires de la vie, à savoir la reproduction et la nutrition.

Au cours de nos recherches expérimentales, nous nous sommes adressé tout particulièrement à deux amibes. La première, **Entamaeba dysenteriae Schaudinn** 1903, est l'agent pathogène de l'amibiase intestinale humaine. La seconde est pathogène pour certains ophidiens et sa culture beaucoup plus facile; il s'agit d'**Entamaeba invadens Rhodain** 1934.

Cette étude comprend deux parties qui, au premier abord, sont assez différentes l'une de l'autre. Cependant, une idée commune leur sert de lien : c'est l'étude de la résistance et du comportement biologique de ces Protistes vis-à-vis de certains agents médicamenteux et physiques, qui, dans certaines conditions, sont léthaux.

On ne compte plus tous les agents médicamenteux qui ont été utilisés dans le traitement de l'amibiase; les travaux de F. Blanc et Fred Siguier sont assez éloquents. La réputation de l'émétine, de la conessine n'est plus à établir. Parmi cet arse-

nal thérapeutique, c'est à un nouveau dérivé iodé, le « **Protistène** », que nous nous sommes adressé.

Dans la première partie de ce travail, nous rapportons notre expérimentation quant à l'étude de la toxicité du produit. Nous essayons d'élucider le mécanisme d'action du « **Protistène** » vis-à-vis d'**Entamaeba dysenteriae.**

Dans la seconde partie, nous étudions la résistance de l'amibe **Entamaeba invadens** aux très basses températures.

Avant d'exposer l'essentiel de nos recherches personnelles, nous passons en revue les innombrables travaux anglo-saxons sur le maintien de la vie aux basses températures. Diverses hypothèses ayant été émises quant aux mécanismes de la mort par le froid et de la survie, nous avons essayé de faire une synthèse de toutes les données concernant ce problème.

Au cours de nos recherches, nous avons donc étudié si l'amibe vit aux basses températures et, dans ce cas, si son comportement biologique en est modifié ou non.

PREMIÈRE PARTIE

ACTION DU PROTISTÈNE

Chapitre premier.

Le « **Protistène** » (1) est un dérivé disodique de l'acide (3' 5' 3'' 5'' tétraiode 4' 4'' dioxy-diphenyl-carbinol), carboxylique 2. Ce sel se présente sous l'aspect d'une poudre cristalline de couleur bleue, d'odeur fortement iodée, de saveur amère, astringente, soluble dans l'eau à la température ordinaire et dont la teneur en iode varie de 55 à 85 %.

Roger Thiebaut, dans sa thèse, montre que ce produit présente des avantages incontestables :

— Sa grande inocuité pour l'homme, qui fut vérifiée au cours de différentes observations, ne donnant que des réactions minimes et passagères.

— Un pouvoir particulier, celui d'être constamment en contact avec les amibes, au cours du cycle entéro-hépathique qu'il parcourt.

Nous nous sommes proposé d'étudier l'action de ce médicament « in vitro », puis son pouvoir inhibiteur sur les cultures. Nous avons cherché si ce produit a un effet léthal par lui-même

(1) Nous remercions vivement les Laboratoires Roussel qui nous ont fourni très aimablement le Protistène dont nous nous sommes servi pour notre expérimentation.

où s'il modifie les conditions biologiques nécessaires au développement des cultures. Nous avons essayé d'élucider son mécanisme d'action sur des animaux sensibles à l'amibiase expérimentale.

Action « in vitro » sur Entamaeba dysenteriae.

Nous avons suivi le protocole suivant : une goutte de solution de « **Protistène** » de titre connu est déposée sur une lame à l'aide d'une pipette Pasteur. On prélève ensuite des amibes dans un tube de culture ensemencé trois jours auparavant, en aspirant le moins possible d'amidon de riz. On laisse tember une goutte de cette culture dans la goutte de « **Protistène** »; le taux de dilution se trouve donc dédoublé. On recouvre d'une lamelle, on lute à la paraffine et on examine à l'étuve de Foot à 37°. Une lame témoin, sans « **Protistène** » est préparée chaque fois.

On note l'heure exacte à laquelle le mélange est effectué. Il a été vérifié que les amibes de la lame-témoin conservent toute leur mobilité. Il ne reste plus qu'à suivre au microscope la mobilité des amibes et à noter l'heure à laquelle on n'observe plus que des formes sphériques.

Résultats.

Premier essai :

Protistène au 1/1.000 Mort en 55 minutes.
Protistène au 1/5.000 Mort en 145 minutes.
Protistène au 1/10.000 Pas d'action.
Protistène au 1/25.000 Pas d'action.
Témoin Amibes vivantes 180 minutes après.

Deuxième essai :

Protistène au 1/1.000 Mort en 30 minutes.
Protistène au 1/2.000 Mort en 75 minutes.

Protistène au 1/4.000 Mort en 150 minutes.
Protistène au 1/6.000 Pas d'action.
Protistène au 1/8.000 Pas d'action.
Témoin Amibes vivantes 180 minutes après.

Conclusions.

La dilution de « **Protistène** » au 1/1.000 agit assez rapidement et arrête les mouvements des amibes après un délai de contact qui varie entre 30 et 60 minutes. Cette action se fait sentir jusqu'à la dilution de « **Protistène** » au 1/5.000 (durée de contact : 3 heures).

Les amibes témoins ont une taille de 20 à 25 microns et une forme allongée. Elles présentent un exoplasme très réfringent et un endoplasme granuleux contenant de nombreux grains d'amidon. Leur déplacement est assez rapide et leur mobilité normale.

Les amibes soumises à l'action du « **Protistène** » ralentissent leur marche puis s'arrêtent; elles émettent quelques pseudopodes sur place et s'arrondissent ensuite en un cercle parfait. Le protoplasme et les grains d'amidon se condensent au centre, on note une zone claire à la périphérie. Nous n'avons jamais observé d'arrêt brusque, encore moins un éclatement du protiste (seuls les détergents provoquent l'éclatement, comme l'ont montré R. Pautrizel, C. Pintaud et E. Neuzil).

Action sur les cultures d'Entamaeba dysenteriae.

Nous avons ajouté une certaine quantité de « **Protistène** » aux milieux de culture. Le milieu utilisé est celui de Dobell et Laidlaw qui comprend deux phases :

— Une phase solide : sérum de cheval coagulé en plan incliné.

— Une phase liquide comprenant 900 cc. de liquide de Ringer et 120 cc. de sérum de cheval liquide, stérilisé par filtration sur kitasato. Ce mélange est réparti à raison de 5 cc. par tube.

De l'amidon de riz stérile est ajouté avant l'ensemencement. La quantité de « **Protistène** » est calculée pour que la dilution du milieu de culture soit au taux voulu.

Résultats.

Premier essai :

Protistène au	1/10.000	Amibes vivantes 4 jours après.
Protistène au	1/20.000	Amibes vivantes 4 jours après.
Protistène au	1/40.000	Amibes vivantes 4 jours après.
Protistène au	1/80.000	Amibes vivantes 4 jours après.
Protistène au	1/160.000	Amibes vivantes 4 jours après.
Témoin		Amibes vivantes 4 jours après.

Deuxième essai :

Protistène au	1/1.000	Aucune culture 4 jours après.
Protistène au	1/2.000	Amibes mortes 4 jours après.
Protistène au	1/4.000	Amibes mortes 4 jours après.
Protistène au	1/6.000	Amibes mortes 4 jours après.
Protistène au	1/8.000	Amibes vivantes 4 jours après.
Témoin		Amibes vivantes 4 jours après.

Troisième essai :

Protistène au	1/1.000	Aucune culture 4 jours après.
Protistène au	1/2.000	Aucune culture 4 jours après.
Protistène au	1/3.000	Amibes mortes 4 jours après.
Protistène au	1/4.000	Amibes mortes 4 jours après.
Protistène au	1/5.000	Amibes mortes 4 jours après.
Protistène au	1/6.000	Amibes mortes 4 jours après.
Protistène au	1/7.000	Amibes vivantes 4 jours après.
Témoin		Amibes vivantes 4 jours après.

Conclusions.

Avec la dilution de « **Protistène** » au 1/1.000, nous avons une inhibition marquée dès le début de la culture. Nous notons

la présence d'une coloration bleue à la surface du sérum coagulé, coloration due à l'adsorption du « **Protistène** ». De ce fait, le taux de la dilution va être modifié.

Nous pensons que le « **Protistène** » agirait en modifiant certaines conditions biologiques indispensables au démarrage des cultures d'abord, au maintien de leur vitalité ensuite.

Discussion.

Nous avons vu que pour obtenir une action léthale ou inhibitrice, nous utilisons des doses élevées de « **Protistène** ». En thérapeutique, les doses utilisées sont beaucoup plus faibles et la concentration du produit dans l'organisme est de loin inférieure à cette concentration au 1/1.000 dont l'action « in vitro » a été démontrée. Le « **Protistène** » apporterait certaines modifications biologiques, modifications vis-à-vis desquelles l'amibe est sensible.

Modifications du rH.

C'est à Chang que revient le mérite d'avoir étudié quelques-unes des conditions physico-chimiques nécessaires au métabolisme amibien : pH, potentiel d'oxydo-réduction et rH. De 1942 à 1946, il reprend ses travaux et montre que, si la flore d'accompagnement a une action sur les cultures d'amibes, il y a aussi une action des amibes vis-à-vis de cette flore bactérienne. Il montre aussi que les phénomènes d'enkystement et de dékystement sont sous la dépendance de ces facteurs physico-chimiques.

Cette étude de l'action du rH sur les cultures d'**Entamaeba dysenteriae** fut reprise par nous-même au Laboratoire de Parasitologie. En même temps, G.-F. Moretti et P. Catros étudient le rôle possible de la flore d'accompagnement dans le maintien du potentiel d'oxydo-réduction des cultures d'amibes. Pour dissocier le couple amibes-bactéries, ils font appel aux antibiotiques.

Le « **Protistène** » agirait donc en modifiant le rH des

milieux de culture; nous avons mesuré les variations du rH en fonction de la dilution étudiée et de la vitesse d'adsorption du produit par le sérum coagulé. Puis nous avons étudié son action sur le démarrage des cultures et le maintien de leur vitalité.

Expérimentation.

On ajoute une certaine quantité de « **Protistène** » au milieu de culture. Connaissant donc la concentration, nous mesurons le rH immédiatement puis 6 heures, 20 heures et 24 heures après. Ceci nous permet de constater que le rH, très élevé au début, baisse progressivement au fur et à mesure de l'adsorption du « **Protistène** ».

Protistène au 1/1.000 rH de 19 (oh.) tombe à 15 (24 h.)
Protistène au 1/2.000 rH de 17 (oh.) tombe à 13 (24 h.)
Protistène au 1/4.000 rH de 14 (oh.) tombe à 11 (24 h.)
Protistène au 1/6.000 rH de 13 (oh.) tombe à 9 (24 h.)
Protistène au 1/8.000 rH de 12 (oh.) tombe à 9 (24 h.)

Avec les milieux de culture ensemencés à partir d'une souche d'**E. dysenteriae,** nous notons les valeurs suivantes pour le rH.

Protistène au 1/1.000 Aucune culture rH de 18
Protistène au 1/2.000 Aucune culture rH de 17
Autres dilutions Amibes mortes rH de 14
Protistène au 1/8.000 Amibes vivantes rH de 8

Nous avons pensé supprimer ce phénomène d'adsorption en expérimentant sur des cultures d'**Entamaeba invadens.** Dans ce cas, nous avons une inhibition des cultures pour un rH compris entre 14 et 17; les cultures sont normales pour un rH de l'ordre de 10 à 12.

Résultats.

L'expérimentation nous montre que la culture de l'amibe n'est pratiquement pas possible lorsque le rH a une valeur élevée, de l'ordre de 18 par exemple. Le rH varie énormément car

il est fonction du pH, du potentiel d'oxydo-réduction et de la température.

Le « **Protistène** » tendrait donc à relever le rH ; mais nous ne pensons pas qu'il est le seul élément déterminant. Il faut aussi tenir compte de la flore d'accompagnement et du métabolisme propre du protiste. Chinn et Jacobs étudient l'influence de la flore bactérienne ; Deschiens et Lamy étudient certains germes tout particulièrement. Jacobs et Rees étudient les variations du potentiel d'oxydo-réduction de cette flore. De leur côté, Snyder et Melleney expérimentent en présence d'agents réducteurs.

Conclusions.

Le rH des cultures d'**Entamaeba dysenteriae,** en présence de « **Protistène** », varie suivant l'adsorption de ce produit par le sérum coagulé. Au bout d'un certain temps, les concentrations étant à peu près égales, les valeurs du rH le sont quasiment aussi. Par contre, **Entamaeba invadens** résiste beaucoup mieux au « **Protistène** ».

CHAPITRE II

Action du « Protistène » sur le tractus intestinal.

Nous avons songé à suivre directement l'action du « **Protistène** » sur le tractus intestinal de l'animal, en mesurant les variations du rH intestinal après administration de « **Protistène** ». Ce produit est donné, soit « per os » au moyen d'une sonde, soit sous forme de lavement, poussé assez loin dans le colon.

Nous avons expérimenté sur le chat tout d'abord, puis sur le rat.

Technique.

Nous expérimentons sur de jeunes chats de 2 à 3 mois. On leur administre au préalable 0,75 g. de « **Protistène** » délayé dans du lait ou dans du liquide de Ringer.

Puis les animaux sont anesthésiés à l'éther et solidement fixés; l'anesthésie est poussée à fond. Une large incision médiane est pratiquée : de l'appendice xyphoïde à la symphyse pubienne. Les anses intestinales sont extériorisées et diverses parties du tractus digestif sont ainsi prélevées entre deux ligatures : coecum, intestin moyen, rectum et estomac (parfois l'angle colique gauche ou le colon transverse; et même le foie). Ces parties sont ensuite ouvertes suivant une incision longitudinale et les électrodes du pH mètre Quéré sont plongées dans le contenu intestinal lui-même. Les mesures sont alors effectuées.

Résultats.

Première expérimentation :

Un premier chat absorbe durant trois jours de suite 0,75 g. de « **Protistène** » délayé dans du lait. Les mesures effectuées nous donnent pour le rH une valeur de l'ordre de 20.

Le second chat sert de témoin ; son rH se maintient autour de 9.

Deuxième expérimentation :

Un premier chat reçoit 0,75 g. de « **Protistène** » « per os », 22 heures avant le prélèvement des viscères. Le rH varie de 15 à 17.

Un second chat reçoit 0,75 g. de « **Protistène** » sous forme de lavement, 6 heures avant les mesures. Le rH varie de 18 à 22.

Deux autres chats servent de témoins. Le rH varie de 7 à 14.

Troisième expérimentation :

Un premier rat ingère 0,75 g. de « **Protistène** » délayé dans du lait. La valeur de son rH cœcal est de 14. Chez le témoin, le cœcum a un rH de 9.

Quatrième expérimentation :

Un premier chat reçoit le « **Protistène** » « per os », le second par voie rectale et le troisième sert de témoin. Les foies sont prélevés et broyés, puis les mesures sont faites. Ici, le rH est à peu près identique pour tous les animaux, compris entre 19 et 22.

Cinquième expérimentation :

Elle porte sur trois chats. Ici aussi, nous constatons que le rH est plus élevé après administration de « **Protistène** » que chez le témoin.

Discussion.

Ceci nous permet de penser que le « **Protistène** » agirait « in vivo » en modifiant le rH intestinal de l'animal. Nous avons remarqué que chez les témoins, le rH varie entre 7 et 14, alors qu'après administration de « **Protistène** » il varie entre 15 et 22. Mais, si dans le coecum et dans le rectum nous avons un rH élevé, il n'en est pas de même pour l'intestin moyen et au cours de notre expérimentation nous avons obtenu des rH variant de 8 à 12 dans cette partie du tractus intestinal, même chez les animaux soumis au « **Protistène** ». La concentration de ce produit, tout au long du tractus digestif, se ferait d'une manière inégale et c'est une des raisons qui peut expliquer les échecs thérapeutiques.

Action thérapeutique du « Protistène ».

Il nous a été donné, au cours d'un rapide séjour à Dakar (1) d'instituer des traitements par le « **Protistène** ». Nous rapportons ici trois cas.

Premier cas :

R... Jean, matelot mécanicien, Dakar. Un premier examen coprologique confirme la présence d'amibes dysentériques. Un traitement est institué et le malade reçoit : Emétine (32 cg.), Strychnine (7 mmg.), Sulfaguanidine (42 g.), Pénicilline (600.000 u. o.). Cure de stovarsol. Un examen coprologique de contrôle montre l'existence de kystes d'amibes dysentériques. Un traitement par le « **Protistène** » est institué : les selles redeviennent normales et tous les examens de contrôle s'avèrent négatifs.

Second cas :

D... Jean, matelot radio, Dakar. Présence de nombreuses

(1) Nous remercions M. le Docteur M. Billaut, Médecin-Chef de la Marine en A.O.F., et M. le Docteur L.-H. Perthuisot, Médecin traitant de l'Infirmerie Unité Marine Dakar, qui nous ont conseillé et guidé durant notre affectation.

amibes dysentériques et de kystes. Traitement mis en œuvre : Emétine (32 cg.), Strychnine (7 mmg.), Sulfaguanidine (42 g.), Pénicilline (500.000 u. o.). Cure de stovarsol. Malgré ce traitement, on note toujours la présence de kystes d'amibe dysentériques. Après une cure de « **Protistène** », les examens de contrôle sont tous négatifs.

Troisième cas :

G... Eugène, premier maître transfiliste, Dakar. Il s'agit d'un amibien chronique qui présente des poussées aiguës. Après un examen coprologique qui montre la présence de kystes d'amibes dysentériques, il subit un traitement par l'Emétine 64 cg.) et le Stovarsol). Il est toujours porteur de kystes. Nouvel épisode aigu et nouveau traitement : Emétine (80 cg.), Pénicilline (1.000.000 u. o.) et Stovarsol. Trois mois après, nouvelle crise aiguë. Le malade émet des glaires sanglantes dans lesquelles on trouve de très nombreuses formes hématophages. On traite cet épisode aigu avant d'instituer la cure de « **Protistène** ». Après cette cure, les selles sont moulées et consistantes; on note cependant la présence de très rares formes végétatives non hématophages et de quelques kystes.

Conclusions.

Dans les deux premiers cas, nous avons deux succès thérapeutiques; le troisième montre un échec malgré une amélioration très nette. Ceci pourrait s'expliquer par une concentration médicamenteuse inégale, tout au long du tractus intestinal.

Conclusion

De ces recherches expérimentales concernant l'action du « **Protistène** » sur la biologie d'**Entamaeba dysenteriae,** il ressort que :

1. Le « **Protistène** » a une action « in vitro » sur l'amibe et cette action est assez rapide à la dilution au 1/1.000.

2. Le « **Protistène** » agit sur les cultures en inhibant leur démarrage par les modifications qu'il apporte aux valeurs du rH.

3. Ces modifications sont aussi marquées « in vivo » lorsque l'on suit les variations du rH dans les diverses parties du tractus intestinal du chat ou du rat.

4. Au point de vue thérapeutique clinique, sur trois observations, nous rapportons deux succès et un échec.

DEUXIEME PARTIE

ACTION DES BASSES TEMPERATURES

Chapitre premier.

Généralités.

Il y a un siècle déjà, diverses communications avaient été publiées, ayant trait à l'étonnante tolérance de certains micro-organismes à de très basses températures. Des graines, des spores bactériennes et des spores de champignons avaient résisté après une longue exposition à une température voisine du zéro absolu.

Plusieurs hypothèses furent émises, cherchant à expliquer pourquoi des cellules peuvent résister à ces températures. D'après ces hypothèses, lorsqu'une cellule est tuée par congélation, sa mort est due à la formation de glace à l'intérieur. On se demande aussi pourquoi l'eau gèle dans certaines cellules et non dans d'autres. C.-B. Lipman pense que lorsque les cellules ne succombent pas, l'eau est contenue dans les minuscules espaces situés entre les particules colloïdales qui constituent le protoplasme.

Pour que l'eau puisse se transformer en glace, c'est-à-dire se cristalliser, il faut que ses molécules subissent un nouvel agencement, selon le système cristallin considéré. Les forces

qui président à cet arrangement moléculaire peuvent être perturbées lorsque les espaces sont très petits. Dans ce cas, la pression exercée par la particule colloïdale est supérieure à la force qui conditionne l'arrangement moléculaire et l'eau ne peut se congeler. Telle est l'opinion de J.B. Luyet et G. Thoennes.

Nous nous proposons, avant d'exposer les résultats de nos recherches expérimentales sur l'amibe **Entamaeba invadens,** d'examiner quelques données concernant les état physiques du protoplasme aux basses températures. Nous aborderons ensuite l'étude du mécanisme de la mort par le froid et, enfin, la question de la survie de ces organismes.

B.-J. Luyet et son école étudient surtout l'action du froid sur la cellule végétale. Avec les Protistes, ils n'obtiennent que des échecs; c'est ce qui nous a poussé à étudier le comportement d'**Entamaeba invadens,** sous sa forme végétative.

Etats physiques du protoplasme.

Nous faisons appel ici à la remarquable étude de B.-J. Luyet et P.-M. Gehenio.

Cristallisation.

La formation d'un centre de cristallisation dans un liquide commence toujours par la collision de molécules suivant des conditions définies d'orientation. Il existe des points dits « de congélation » qui varient selon les substances étudiées. Les travaux de Dixon et Atkins, puis de Garrey et de Luyet et Gehenio nous montrent que les tissus vivants ont des points de congélation supérieurs à ceux des tissus morts. Ces deux derniers auteurs proposent la théorie dite de « Double congélation », avec un point de congélation pour l'eau intercellulaire et un autre pour l'eau extra-cellulaire. L'existence de ces deux points différents amènerait un déséquilibre osmotique permanent entre le contenu cellulaire et les espaces intercellulaires.

On a même pensé que l'eau, à l'état liquide, posséderait une structure quasi-cristalline et qu'un tout petit arrangement moléculaire est nécessaire pour obtenir l'état cristallin. Tamman pense que la vitesse de croissance des cristaux est d'autant moins rapide que la température est plus basse. Pour Walton et Jodd, Hartmann, Tamman et Büchner, c'est la température de cristallisation qui détermine la forme des cristaux. La vitesse de croissance d'un cristal de glace est d'environ 65 mm. par seconde à —8°; l'addition de substances réduit cette vitesse : 3 % de gélatine la réduisent 350 fois d'après Callow.

Goeppert, Moran, Molisch, Moran et Hardy montrent que dans un gel, au cours d'une congélation lente, l'eau vient en surface où elle gèle en une masse compacte, tandis que lors d'une congélation rapide, l'eau gèle à l'intérieur du gel. Pour les cellules, Du Petit-Thouars, de Mohl, Caspary pensent à une congélation inter-cellulaire; ce qui est confirmé par Prillieux, Sachs et Müller-Thurgau. Matruchot et Molliard montrent qu'il se produit un départ d'eau des constituants cellulaires, en particulier avec le noyau, probablement avec les chromosomes.

Après une congélation et une décongélation, certains colloïdes demeurent inaltérés alors que d'autres subissent des précipitations irréversibles. Des auteurs comme Lottermoser, Robertag, Feist et Fischer, Bottazi et Bergam, Moran, Nord, Heller, Luyet et Grell montrent que les causes de ces précipitations sont de tout ordre : compression entre les masses de glace, changement de la charge électrique durant la congélation ou la décongélation, changement dans la structure chimique et atteinte de la température de saturation. L'altération des tissus par la congélation serait sous la dépendance de divers facteurs : changements de morphologie externe, libération d'enzymes, changements chimiques internes, désagrégation des constituants cellulaires et précipitation protoplasmique. Cette précipitation semble être d'une nature différente de la coagulation par les autres agents léthaux.

Surfusion.

Il semble logique de considérer la surfusion comme un cas général et la cristallisation comme un cas particulier, car la température fixée de congélation ne serait qu'une température, la plus haute de toutes les températures à laquelle un fluide peut commencer à cristalliser. Cette congélation ne commence pas précisément au point de congélation, sauf dans le cas particulier où l'on trouve un centre de cristallisation, centre qui est lui-même un cristal infinitésimal.

Des physiciens et des biologistes comme Mez, Moran, Gay-Lussac, Desprestz, John, Miller et Bailey, Wright et Taylor ont étudié certains facteurs produisant ou prévenant la cristallisation : température, ensemencements (par des cristaux isomorphes ou ensemencements des tissus par des moisissures de surface), temps, désordres mécaniques (chocs, vibrations, secousses ou agitation), capillarité, impuretés (air, gouttelettes huileuses, particules colloïdales).

Etat vitreux.

Les premières expérimentations sur la « vitrification du protoplasme » datent de 1937 et sont dues à B-J. Luyet. L'état vitreux était connu depuis de nombreuses années avec les silicates et Tammann pensait qu'un certain nombre de corps pouvaient être obtenus sous cet état. Cet état occupe la zone la plus basse dans l'échelle des températures. La cristallisation n'est donc possible que dans une certaine limite de température : en dessous d'un certain degré, la matière est trop inerte pour cristalliser.

L'état vitreux est obtenu en congélant un liquide très rapidement ; cette rapidité a pour but de faire traverser, à ce liquide, la zone des températures de cristallisation ; avant même qu'il ait le temps de cristalliser. Luyet utilise, comme méthode de refroidissement rapide, l'immersion dans l'air liquide de substances réduites en couches très minces.

Une substance à l'état vitreux cristallise lorsqu'on augmente la température. Cette température de cristallisation des solutions augmente lorsque l'on passe d'une solution à composition moléculaire simple à une solution plus complexe. Avec une solution donnée, de haute concentration (une molécule de sucrose pour 9 ou 10 d'eau), la cristallisation n'a pas lieu. Avec des concentrations intermédiaires (une molécule de sucrose pour 10 ou 14 d'eau), la cristallisation a lieu entre certaines limites de température et la masse cristallisée acquiert une structure en touffes. Quand on passe à des concentrations plus faible encore, les limites des températures de cristallisation deviennent plus larges et la substance cristallisée apparaît comme une masse transparente ayant la couleur de l'ambre; elle s'obscurcit graduellement pour devenir complètement opaque. Le comportement de ces trois groupes de concentrations est attribué à trois formes d'hydratation (B.-J. Luyet).

Par un réchauffement très rapide (immersion dans un bain chaud), on peut éviter la cristallisation et passer directement de l'état vitreux à l'état liquide; on nomme ce changement d'état : « fusion vitreuse ».

Aussi loin que les êtres vivants peuvent être comparables à une solution gélatineuse, on peut espérer arriver à vitrifier des organismes dont l'épaisseur ne dépasse pas un tiers de millimètre et dont la concentration aqueuse est de 50 %; ou de plus petits organismes ayant une concentration plus forte, mais qui ne devra jamais dépasser 90 %.

Parmi les travaux de nombreux biologistes, nous relevons les résultats suivants :

a) Les Protozoaires, Euglénes, Paramécies, Amibes ne survivent pas à cette expérimentation. Quelques « **myxamaeba** » survivent (Luyet et Gehenio).

b) Quelques spermatozoïdes de grenouille retrouvent leur mobilité après passage dans l'air liquide. Les spermatozoïdes de rat ne la retrouvent jamais (Luyet et Hodapp).

c) Les cellules épidermiques de l'oignon sont capables de

plasmolyse après vitrification et « fusion vitreuse » (Luyet et Thoennes).

d) Les cellules des feuilles de mousse demeurent toujours en vie après un refroidissement et un réchauffement rapides; elles sont toujours tuées par une expérimentation lente (Luyet et Gehenio).

c) Les fibres musculaires de la grenouille répondent à des stimuli électriques après vitrification et « fusion vitreuse » (Luyet et Thoennes).

Toutes ces expériences confirment qu'une bonne vitrification n'est pas léthale car elle n'apporte aucun désordre moléculaire. Une vitrification incomplète et, « à fortiori », une cristallisation, sont léthales parce qu'elles déterminent une rupture de la structure de la matière vivante.

Mécanisme de la mort par le froid.

Il convient avant tout de distinguer entre une mort organique, systématique, cellulaire ou protoplasmique, selon l'excellente classification qu'en donnent Luyet et Gehenio.

— La mort d'une grenouille par destruction des globules rouges de son sang congelé est une mort organique.

— La mort de la feuille d'un arbre, due au fait qu'une couche de glace s'est formée à son point d'attache et empêche le passage de la sève, est une mort systématique.

— La mort d'un tissu provenant d'une rupture des membranes cellulaires sous l'effet des cristaux de glace est une mort cellulaire.

— La mort de la matière vivante due à une précipitation des colloïdes au moment de la congélation est une mort protoplasmique.

De ces notions fondamentales, il découle que le mécanisme de la lésion et de la mort par le froid varie selon que cette mort s'accompagne ou non de formation de glace.

Action du froid sans formation de glace.

L'action léthale du froid, en dessous du point de congélation du protoplasme, a été étudiée sur les homéothermes; sur quelques poïkilothermes, sur des plantes différenciées et sur des formes vivantes indifférenciées. Cette action, dans laquelle le facteur temps est assez important, a été attribuée à une turbulence des fonctions physiologiques : changements chimiques, accumulation de produits toxiques, altération de la perméabilité, déshydratation, changements de viscosité, changements des propriétés d'adsorption et des phénomènes de solidification, de précipitation et de coagulation. Gehenio et Luyet pensent qu'il y aurait transformation du sol protoplasmique en un gel.

Les organismes qui résistent au très grand froid appartiennent à trois groupes : ceux qui résistent à l'état desséché, ceux qui résistent avec toute leur eau de constitution, ceux qui survivent qu'après un refroidissement et un réchauffement rapides. La formation de glace peut être évitée par l'état d'eau liée dans les organismes partiellement desséchés, par les forces capillaires, par une rapide exosmose possible de l'eau dans les petites formes vivantes ou par une échelle étroite des températures de congélation. Le froid seul, qui donne une diminution du mouvement moléculaire, est inoffensif. L'eau joue une rôle important, non seulement dans l'activité fonctionnelle de la matière vivante, mais aussi dans la structure des organismes vivants.

La vie est probablement conditionnée par une structure spéciale qui, aux basses températures, permet un état de vie latente et, aux hautes températures, fournit les bases mécaniques des activités vitales. La destruction de cette structure amène la mort.

Action du froid avec formation de glace.

Les hypothèses émises sont fort nombreuses. Plateau, Goeppert et Muller-Thurgau pensent que la mort est due à un

simple départ d'énergie : la congélation est impossible aussi longtemps que l'organisme est vivant; la vie doit disparaître pour permettre la formation de glace. Pour Mez, Apelt, Rein et Voigtlander, la mort est due à une température minima, caractéristique de chaque espèce. La mort a aussi été attribuée à une injure mécanique par éclatement des cellules sous l'expansion de la glace en formation. Sachs, Prillieux, Muller-Thurgau, Chandler, Iljin, Turner et Brayton pensent à une décongélation trop rapide. Des physiologistes comme Matruchot et Molliard, Pfeffer, Jensen et Fischer, Cameron et Brownlee, Maximov, Luyet, Becquerel, Levitt attribuent la mort par le froid à une déshydratation du protoplasme. Pour eux, la déshydratation par congélation est léthale; alors que la désydratation par assèchement de l'air augmente la résistance au froid.

Survie après congélation.

Nous avons étudié les divers états sous lesquels se présente la matière vivante soumise à de très basses températures. Nous avons essayé de dégager quelques-unes des hypothèses relatives au mécanisme de cette mort par le froid. Il nous reste maintenant à envisager la question de la survie après congélation aux basses températures. Luyet étudie la survie d'organismes entiers, comme les anguillules du vinaigre, et de tissus comme l'amnios et le cœur de l'embryon de poulet.

Nous avons déjà indiqué l'existence d'une zone dite de « températures critiques », zone qu'il convient de sauter rapidement si l'on veut éviter la cristallisation.

Il est d'autant plus facile d'obtenir la survie que le contenu en eau de l'organisme est moins élevé. Nous voyons donc l'avantage que l'on peut retirer d'une déshydratation partielle de la matière vivante, avant de la soumettre aux très basses températures.

Expérimentant sur les anguillules du vinaigre, Luyet et ses collaborateurs obtiennent, après congélation à —195° et réchauffement rapide (bain de vinaigre ou d'eau à 30°), une

proportion de survivants qui est d'environ 90 %. Avec des tissus vivants, ces auteurs obtiennent la reprise des contractions rythmiques spontanées du muscle amniotique et la reprise des battements du cœur d'embryon de poulet.

Il est à remarquer que les auteurs disent n'avoir jamais obtenu le rétablissement complet de l'état normal après la congélation. Les mouvements observés étaient ou moins intenses, ou moins aisés que les témoins; leur durée était généralement réduite; la proportion des survivants n'était pas toujours élevée.

Tout ceci correspond bien à la théorie d'après laquelle la formation de glace cristalline détruit la structure de la matière vivante, tandis que le froid seul et la solidification à l'état amorphe ne l'endommagent pas.

Conclusion.

D'après tous les travaux récents, il résulte que le maintien de la vie après congélation aux très basses températures est possible. Cette survie est fonction de la rapidité avec laquelle on arrive à sauter la zone léthale des températures dites « de cristallisation ». Nous avons vu que les chercheurs américains n'avaient obtenu que des résultats négatifs avec les Protistes.

Chapitre II

RECHERCHES EXPERIMENTALES SUR ENTAMAEBA INVADENS

Il nous a paru intéressant de reprendre la question et d'étudier le comportement de certains Protistes aux très basses températures.

Nous avons expérimenté successivement sur des **Trichomonas** puis sur des **Strongles,** mais nous n'avons noté aucun succès. Nous avons alors étudié le comportement de l'amibe **Entamaeba invadens,** sous sa forme végétative. La culture en est aisée; elle se fait en présence d'amidon de riz; le milieu de culture ne se compose que de la phase liquide, il n'y a donc pas de sérum de cheval coagulé. La température est celle du laboratoire. Deschiens avait étudié la résistance des formes végétatives d'**Entamaeba dysenteriae.** Mais il n'était pas descendu au-dessous de 0°; il montrait aussi que la congélation tue l'amibe dysentérique en 5 minutes.

Résistance d'Entamaeba invadens aux basses températures.

Les températures utilisées dépassent —50°; nous nous sommes servi de l'air liquide et plus spécialement de l'azote liquide, ce qui nous donne une température de —180°. Cet azote liquide est versé dans un vase à double parois.

Pour ramener rapidement les organismes de la température de l'azote liquide à la température ambiante, nous utilisons une source chaude à température constante : bain-marie électrique (50° à 60° c.).

Techniques.

Nous prélevons une partie du milieu de culture; la richesse de cette culture étant vérifiée, nous la plongeons brusquement dans l'azote liquide. Le réchauffement rapide est obtenu par immersion dans le bain-marie à température donnée. Il a été vérifié que l'amibe supporte durant quelques secondes la température du bain-marie. Un examen au microscope permet de contrôler la vitalité du Protiste; des ensemencements sont aussi pratiqués.

Une première méthode consiste à laisser tomber une goutte de la culture dans le fond d'un tube en aluminium de 5 cm de diamètre. La goutte se congèle en masse et n'a pas le temps de s'étaler en couche mince, comme nous l'espérions. Après réchauffement rapide et examen, cette méthode ne nous donne que des résultats négatifs, aussi l'avons-nous abandonnée.

Une seconde méthode est alors mise au point et c'est celle que nous adoptons : la culture est aspirée dans une fine pipette en verre; cette pipette est ensuite fermée à la lampe. Nous la plongeons brusquement dans l'azote liquide puis dans le bain-marie. Le contenu est ensuite examiné au microscope; des ensemencements sont aussi effectués.

Résultats.

Au cours d'une première série d'expériences, nous notons les résultats suivants :

Premier essai :

Bain-marie à 52°. — A l'examen, on remarque la présence de nombreux amas d'amidon (libérés par éclatement des amibes). On observe de nombreuses formes sphériques et quelques

amibes fixées avec leurs pseudopodes étalés. Aucun mouvement.

Deuxième essai :

Bain-marie à 56°. — Nombreux éclatements; formes sphériques. Présence de formes vivantes émettant des pseudopodes presque immédiatement (après 20 minutes d'observation elles sont toujours en vie).

Troisième essai :

Bain-marie à 56°. — Deux ensemencements sont effectués. Pas d'examen direct.

Quatrième essai :

Bain-marie à 56°. — Nombreux éclatements; formes sphériques; formes fixées avec pseudopodes étalés. Quelques formes mobiles.

Cinquième essai :

Bain-marie à 56°. — Nombreux éclatements et quelques formes mobiles.

Les meilleurs résultats sont obtenus avec une température de 56° et un temps de passage très court, de l'ordre de la seconde. Le nombre des survivants est très faible : de l'ordre de cinq à six amibes par champ (nous pensons à un pourcentage de 20 à 25 %).

Ensemencements.

Au cours d'une seconde série d'expériences, nous effectuons six ensemencements. Ces ensemencements nous ont donné diverses souches.

— Les souches AL I et AL II proviennent de la première série d'expériences.

- Les souches X-2 X-3 X-4 X-5 et S.O. proviennent de la seconde série d'expériences. X-T est la souche-témoin. Par contre, X-6 ne donne rien (échec).

Ces souches ont été maintenues en vie durant plus de onze mois. Nous avons constaté que les conditions de reproduction sont normales et la pullulation amibienne identique à celle de la souche-témoin.

Comportement biologique d'Entamaeba invadens après congélation à —180°. Etude du pouvoir hématophage.

F. Coutelen, J. Biguet et G. Cochet étudiant l'hématophagie expérimentale de **Trichomonas natricis,** pensent que la rapidité de l'ingestion et la constance de l'hématophagie dépendent des dimensions des globules rouges et non de l'espèce animale. L'étude du pouvoir hématophage peut nous donner d'utiles renseignements sur la biologie de l'amibe **Entamaeba invadens** soumise aux basses températures.

Technique.

Le sang recueilli par ponction veineuse (homme, lapin, mouton) ou intra-cardiaque (grenouille) est citraté puis centrifugé et lavé quatre fois dans du sérum physiologique isotonique. On ajoute à chacun des tubes de culture, cinq gouttes de la suspension d'hématies (nous nous servons de la pipette de Ducloux). Les prélèvements et les examens sont effectués 24 heures, puis 48 heures, puis quatre jours après. Le pouvoir hématophage est ainsi mis directement en évidence.

Résultats.

Hématies de lapin :

Hématophagie intense : X-2 X-3 X-4 S.O.
Hématophagie moyenne : X-T X-5 ALI ALII.

Hématies de mouton :

Hématophagie intense : X-T X-2 X-3 X-4 X-5 S.O. ALII.

Hématophagie faible : ALI.

Hématies de grenouille :

Hématophagie intense : X-2 X-3.
Hématophagie moyenne : X-T S.O. ALI ALII.
Hématophagie nulle : X-5.

Hématies d'homme :

Hématophagie intense : X-T X-2 X-3 X-4 X-5 S.O. ALI.
Hématophagie moyenne : ALII.

Le pouvoir hématophage est moins marqué pour les hématies de grenouille. Ce pouvoir est plus marqué pour les souches ayant été congelées que pour la souche-témoin.

Etude de la phagocytose expérimentale.

F. Coutelen, J. Biguet et G. Cochet remarquent que les cultures d'**Entamaeba invadens Rhodain** 1934 sont favorisées par adjonction de certains amidons dans les milieux de culture. Pour eux, contrairement à **Entamaeba dysenteriae** qui refuserait de phagocyter certains de ces amidons, **Entamaeba invadens** trierait les plus petits grains, quelle que soit leur nature, dans les mélanges d'amidons qui leur sont offerts. C'est vers l'amidon de riz que vont cependant toutes les préférences.

Technique.

Nous avons utilisé divers amidons : riz, blé, orge, arrow-root, maïs, pomme de terre; et des farines : seigle, avoine. Ces amidons et farines sont stérilisés à 120° pendant 60 minutes, durant trois jours consécutifs.

Les ensemencements sont effectués à partir de cultures très riches et sans amidon de riz. Nous effectuons les examens de contrôle 10, puis 15 et 21 jours après. La réaction glycogénique est mise en évidence par addition d'une goutte de solu-

tion de Lugol : les amibes ayant phagocyté plusieurs grains prennent alors une teinte acajou.

Résultats.

Amidon de riz. — Phagocytose intense mais beaucoup plus marquée que chez la souche-témoin. Très favorable aux cultures.

Amidon de blé. — Phagocytose intense avec X-3 S.O.; moyenne avec les autres souches et le témoin.

Amidon d'orge. — Phagocytose intense avec X-2 X-4 AL I; moyenne avec les autres souches et le témoin. Favorable aux cultures.

Amidon d'arrow-root. — Phagocytose intense et très favorable aux cultures avec X-T X-2 X-3 X-5 S.O.; moyenne avec X-4 AL I AL II.

Amidon de maïs. — Phagocytose intense avec X-2 X-4 S.O. AL II; moyenne avec X-T X-3 X-5 AL I.

Amidon de pomme de terre. — Phagocytose très moyenne avec toutes les souches; seuls les plus petits éléments sont phagocytés.

Farine de seigle. — Peu favorable aux cultures. Phagocytose très faible et irrégulière.

Farine d'avoine. — Phagocytose très faible et irrégulière.

Il semble que le pouvoir phagocytaire soit légèrement augmenté. On note une tendance très nette à phagocyter les éléments les plus petits.

Etude de la sensibilité au « Protistène ».

Pour notre expérimentation, nous avons utilisé des souches très riches en amibes; en l'occurrence, les souches X-2 X-5 et S.O. Connaissant la plus grande résistance d'**Entamaeba invadens** au dérivé iodé (première partie de ce travail), nous avons expérimenté avec les dilutions suivantes : 1/500, 1/1.000, 1/2.000 et 1/4.000.

Les tubes de cultures contenant la dilution de « **Protis-**

tène » sont ensemencés, puis nous effectuons des contrôles afin de suivre la pullulation amibienne. Chaque fois nous mesurons le rH de ces cultures.

Les concentrations de « **Protistène** » au 1/1.000, 1/2.000 et 1/4.000 ne gênent en rien la pullulation des amibes et leur densité est aussi forte que celle que l'on observe dans les tubes-témoins.

Avec une concentration de « **Protistène** » au 1/500, aucune culture avec les souches X-T X-5 S.O. Par contre, la souche X-2 présente quelques formes végétatives mobiles.

Le rH oscille entre 9 et 15 pour les cultures normales. Avec la dilution au 1/500, le rH est compris entre 17 et 19 lorsqu'il n'y a aucune culture; avec la souche X-2, nous avons un rH de 15.

Ces souches réagissent normalement aux variations du rH.

Conclusion.

Nous avons esquissé une étude rapide des divers états sous lesquels peut se présenter le protoplasme aux basses températures : état cristallin, état de surfusion et état vitreux. Nous avons étudié aussi les divers mécanismes qui peuvent intervenir dans la mort par le froid, et les conditions nécessaires pour obtenir la survie d'organismes vivants après congélation à des températures voisines du zéro absolu. Un refroidissement et un réchauffement rapides sont absolument nécessaires pour éviter la zone léthale dite de « **cristallisation** ».

Notre expérimentation a porté sur l'amibe **Entamaeba invadens.** Les milieux de cultures, aspirés dans de fins tubes capillaires, sont plongés dans l'air liquide (180°), puis dans un bain-marie à 56°. des amibes qui se trouvent directement au contact de la paroi du tube passent brusquement de l'état vivant à l'état vitreux et inversement. Les amibes situées à l'intérieur de la colonne liquide subissent une congélation et une décon-

gélation relativement plus lentes et il y a, de ce fait, un début de cristallisation qui se traduit par l'éclatement du Protiste.

Nous avons observé des formes végétatives mobiles et des ensemencements effectués nous ont permis d'obtenir des cultures. Ces cultures ont été repiquées régulièrement et, onze mois après l'expérimentation, elles n'ont rien perdu de leurs propriétés de reproduction ainsi que leur faculté de phagocyter divers amidons. La sensibilité de ces souches aux variations du rH, ainsi que leur pouvoir hématophage vis-à-vis de certaines hématies ont été étudiés et l'expérimentation rapportée au cours de ce travail.

CONCLUSIONS GENERALES

Nous avons été amené à étudier le comportement biologique de certaines amibes du genre **Entamaeba : Entamaeba dysenteriae Schaudinn 1903 et Entamaeba invadens Rhodain 1934.**

Nos recherches expérimentales ont porté tout d'abord sur l'action du **« Protistène »** in vitro vis-à-vis de l'amibe dysentérique et in vivo sur le tractus intestinal de certains animaux.

Ces recherches montrent que :

1. Le **« Protistène »** a une action toxique à des concentrations élevées (de l'ordre du 1/1.000), du moins in vitro et en culture. Il agirait en modifiant les conditions biologiques nécessaires à la vie de l'amibe. A ces concentrations il modifie le rH des cultures et le rend incompatible avec la vie du Protiste.

2. Chez l'animal, chat ou rat, l'administration de **« Protistène » per os** et par voie rectale, relève presque toujours le rH intestinal et le porte à une valeur telle que l'amibiase ne peut ni se greffer, ni se maintenir chez ces animaux. Ce produit agirait donc chez l'homme par un mécanisme semblable, comme le laissent supposer les essais thérapeutiques effectués.

Dans la seconde partie de ce travail, nous avons exposé les résultats obtenus avec l'amibe **Entamaeba invadens** au cours de notre expérimentation sur la survie après congélation dans l'air liquide.

Ceci nous permet de conclure que :

1. La survie de l'amibe **Entamaeba invadens,** après congélation aux très basses températures (— 180°), est possible, sous réserves d'un refroidissement et d'un réchauffement rapides.

2. L'amibe **Entamaeba invadens,** après congélation à — 180°, peut se reproduire. Nous avons ainsi obtenu des souches qui ont été maintenues en vie plus de onze mois. Leurs facultés de reproduction, d'hématophagie et de phagocytose étaient normales; ainsi que leur sensibilité aux variations du rH.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes Condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes Confrères pour des frères, et s'ils devaient apprendre la médecine ou recourir à mes soins, je les instruirais et les soignerais sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes. Si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

VU :
Bordeaux, le 2 Mai 1952.
le Doyen,
G. PORTMANN

VU : bon à imprimer.
Le Président de Thèse :
R. SIGALAS.

Vu et permis d'imprimer
Bordeaux, le 5 Mai 1952.
Le Recteur,
E. DELAGE.

BIBLIOGRAPHIE

Blanc E. — Médecine Tropicale. Juin 1941, p. 92-93.

Blanc F. et Siguier Fred. — Le Journal Médical Français. Février 1948, n° 2, p. 361-366.

Blanc F. et Siguier Fred. — Maroc Médical. Septembre 1948, n° 280.

Blanc F. et Siguier Fred. — *L'Ambiase*, 1 vol. édit. Expansion Scientifique Française, 1950.

Blanc F. et Siguier Fred. — Semaine des Hôpitaux de Paris. 7 juin 1947, n° 21.

Brand (von), Rees, Jacobs, Rearson, Lucy. — Am. J. Hyg. 1943. May. Vol. 37, p. 310-319.

Cambies. — Académie de Médecine. Séance du 5 avril 1949.

Chinn, Jacobs, Rearson et Rees. — Am. J. Tropical Med. 1942. Vol. 22, p. 137-146.

Courdurier. — Thèse Doctorat en Médecine. Bordeaux. 1934.

Deschiens R. — C. R. Soc. Biologie. 1937. Vol. 125, p. 1017-1020.

Deschiens R. — Bull. Soc. Path. Exotique. 1937. Vol. 30, p. 562-564.

Deschiens R. — Paris Médical. Juin 1938.

Deschiens R. — Biologie Médicale. 1950. Vol. 39, p. 57-91.

Guignaro J. — Thèse Doctorat en Médecine. Bordeaux. 1949.

Jacobs L. — Am. J. of Hyg. 1947. Vol. 45, p. 172-178.

Jean-Baptiste J.-A. — Thèse Doctorat en Pharmacie. Paris. Juin 1943.

Joyeux Ch. et Sicé A. — *Précis de Médecine Coloniale*. Masson Ed. 1950.

Lamy L. — C. R. Soc. Biologie. 1948, n° 9-10, p. 633-634.

Lamy L. — Ann. Inst. Pasteur. 1946. 72, p. 295-296.

Lamy L. — Ann. Inst. Pasteur. Sept.-Oct. 1944, n° 9-10, p. 318-320.

Mathis. — Ann. Inst. Pasteur. 1905, p. 91.

Monnerot-Dumaine. — Bull. Soc. Path. Exotique. 1932, p. 947-951.

Moretti G.-F. et Catros P. — Biologie Médicale. Mars 1951. Vol. XL, p. 111-124.

Pautrizel R., Pintaud C. et Masquelier J. — Bull. Soc. Pharm. Bordeaux. 1949, p. 83.

Pautrizel R., Pintaud C. et Neuzil E. — Comm. Soc. Pharm. Bordeaux. Mai 1949.

Rees, Rearson, Jacobs, Jones. — Am. J. Trop. Med. Juillet 1946. Vol 27, p. 567-578.

Rees, Rearson, Lucy, Jones. — J. de Parasit. 1947. Vol. 33, p. 385.

Savy P. — Traité Thérap. Clinique. Tome I. Supplément 1951. 5e éd., p. 57-69.

Sautet J. — Ann. Parasit. 1926. IV, p. 345.

Shi-Lu-Chang. — Am. J. Trop. Med. Scp. 1942. Vol. 42, p. 471-485.

Shi-Lu-Chang. — J. of Infect. dis. 1943. 72, p. 232-241.

Shi-Lu-Chang. — Parasitology 1946. 37, p. 101-112.

Snyder T. et Melleney H. — Am. J. Trop. Med. 1941. Vol. 21, p. 63-73.

Snyder T. et Melleney H. — J. Parasitology. 1943. Vol. 29, p. 278-284.

Snyder T. et Melleney H. — J. Parasitology. 1946. Vol. 32, p. 354-358.

Soulage J. — Médecine Tropicale.

Thiebaut R. — Thèse Doctorat en Médecine. Alger. Avril 1949.

Apelt A. — Cohns. Beitr. z. Biol. d. Pfl. 1907. 9, p. 215.

Atkins W.-R. — Sc. Proc. Roy. Dublin Soc. 1909. 12, p. 123.

Atkins W.-R. — Bioch. J. 1909. 4, p. 480.

Becquerel P. — C. R. Acad. Sciences. 1905. 140, p. 1652; 1909. 148, p. 1052; 1910. 150, p. 1437; 1925. 181, p. 805; 1929. 188, p. 1308; 1930. 190, p. 1134; 1932. 194, p. 1378; 1932. 194, p. 1974; 1932. 194, p. 2158; 1936. 202, p. 978; 1937. 204, p. 1267; 1938. 206, p. 1587; 1950. 231, p. 261-263; 1950. 231, p. 1274.

Bobertag H., Feist K. et Fischer W.-H. — Ber. d. deutsch. Chem. Ges. 1905. 41, p. 3675.

Bottazi F. et Bergami G. — Arch. Scienze Biol. 1924. 6, p. 74.

Callow E.-H. — Proc. Roy. Soc. London. 1925. 108, p. 307.

Cameron A.-T. et Brownlee T-I. — Proc. Roy. Soc. Canada. 1913. 7, p. 107.

Chandler W.-H. — Mo. Agr. E xp. Sta. Res. Bull. 1913. 8, p. 143.
Caspary R. — Bot. Zeitz. 1854, p. 665-674; 681-690; 697-706.
Coutelen F., Biguet J. et Cochet G. — Bull. Soc. Path. Exotique. 1948. T. XLI, p. 657, 660.
Coutelen F., Biguet J. et Cochet G. — Bull. Soc. Path. Exotique. 1948. T. XLI, p. 652, 656.
Deschiens R. — C. R. Soc. de Biologie. Séance du 24 février 1934. T. CXV, p. 793.
Despretz C. — C. R. Acad. Sciences. 1837. 5, p. 19.
Dixon H. et Atkins W.-R. — Sc. Proc. Roy. Dublin Soc. 1910. 12, p. 275.
Fischer H.-W. — Beitz. z. Biol. d. Pfl. 1911. 10, p. 133.
Fischer H.-W. et Bobertag H. — Bioch. Ztschr. 1909. 18, p. 58.
Garrey W.-E. — Biol. Bull. 1905. 8, p. 257.
Garrey W.-E. — Biol. Bull. 1915. 28, p. 77.
Gay-Lussac. — Ann. de Chimic. 1866. 58, p. 363.
Gehenio P.-M. et Luyet B.-J. — Biodynamica. Décembre 1939, n° 55.
Gehenio P.-M. et Luyet B.-J. — Biodynamica. 1947, n° 6, p. 141.
Goeppert H.-R. — Bot. Zeitz. 871. 29, p. 48, 65.
Gonzales F. et Luyet B.-J. — Biodynamica. 1950, n° 7, p. 1.
Hartmann R. — Ztschr. f. anorg. v. allg. Chem. 1914. 88, p. 128.
Heller W.-C. — C. R. Acad. Sciences. 1934. 199, p. 354.
Iljin W.-S. — Protoplasma. 1934. 20, p. 105.
Jensen P. et Fischer H.-W. — Ztschr. f. allg. Physiol. 1910. 11, p. 23.
Jones, Miller et Bailey. — Wisc. Agr. Exp. Sta. Res. Bull. 1919. 46, p. 1.
Levitt J. — Plant. Physiol. 1939. 14, p. 93.
Lipman C.-B. — Bull. Torrey Bot. Club. 1936. 63, p. 515.
Lipman C.-B. — Bull. Torrey Bot. Club. 1937. 64, p. 537.
Lipman C.-B. — Biodynamica. Avril 1939, n° 45.
Lipman C.-B. et Lewis G.-N. — Plant. Physiol. 1934. 9, p. 392.
Lottermoser A. — Ztschr. f. physik. Chem. 1907. 60, p. 451.
Lottermoser A. — Ber. d. deutsch. Chem. Ges. 1908. 41, p. 3976.
Luyet B.-J. — C. R. Acad. Sciences. 1937. 204, p. 1214.
Luyet B.-J. — C. R. Soc. Biologic. 1938. 127, p. 788.
Luyet B.-J. — Arch. f. exp. Zellforsch. 1939. 22. p. 487.
Luyet B.-J. — Bull. Murithienne. 1938-1939. Vol. 56, p. 96.
Luyet B.-J. — Biodynamica. 1949, n° 7, p. 217.

Luyet B.-J. — Bull. Murithienne. 1950. Fascicule LXVII.
Luyet B.-J. — Biodynamica. 1937, n° 29, p. 1.
Luyet B.-J. — J. Phys. Chem. 1939.
Luyet B.-J. et Condon H.-M. Biodynamica. 1938, n° 37, p. 1.
Luyet B.-J. et Gehenio P.-M. — Biodynamica. 1937, n° 30, p. 1.
Luyet B.-J. et Gehenio P.-M. — Biodynamica. 1938, n° 42, p. 1.
Luyet B.-J. et Gehenio P.-M. — Biodynamica. 1939. Juin, n° 48.
Luyet B.-J. et Gehenio P.-M. — Biodynamica. 1940. Juin, n° 60.
Luyet B.-J. et Gibbs M.-C. — Biodynamica. 1937, n° 25, p. 1.
Luyet B.-J. et Grell S.-M. — Biodynamica. 1936, n° 23, p. 1.
Luyet B.-J. et Hartung M.-C. — Biodynamica. 1941, n° 3, p. 353, 362.
Luyet B.-J. et Hartung M.-C. — Biodynamica. 1941, n° 3, p. 363, 367.
Luyet B.-J. et Hodapp E.-L. — *Protoplasma*. 1938. 30, p. 254.
Luyet B.-J. et Hodapp E.-L. — C. R. Soc. Biol. 1938. 127, p. 786.
Luyet B.-J. et Hodapp E.-L. — Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 1938. 39, p. 433.
Luyet B.-J. et Thoennes G. — C. R. Acad. Sciences. 1938. T. 206, p. 2002.
Luyet B.-J. et Thoennes G. — *Sciences*. 1938. 88, p. 284.
Luyet B.-J. et Thoennes G. — C. R. Acad. Sciences. 1938. T. 207, p. 1256.
Matruchot L. et Molliard M. — Rev. Gen. Bot. 1902. 14, p. 401, 463, 522.
Maximov N.-A. — Jahrb. f. wiss. Bot. 1914. 53, p. 327.
Mez C. — Flora. 1905. 94, p. 89.
Molisch H. — Untersuchungen über das Erfrieren der Pflangen. Iena. 1897.
Moran T. — Proc. Roy. Soc. London. 1925. 98, p. 436.
Moran T. — Proc. Roy. Soc. London. 1926. 112, p. 30.
Moran T. — Proc. Roy. Soc. London. 1930. 107, p. 182.
Moran T. — Proc. Roy. Soc. London. 1935. 118, p. 545.
Muller-Thurgau. — Schweiz. Ztschr. f. Obst. u. Weinhav. 1860. 3, p. 316.
Muller-Thurgau. — Landw. Jahrb. 1880. 9, p. 133.
Muller-Thurgau. — Landw. Jahrb. 1886. 15, p. 453.
Nord F.-F. — *Protoplasma*. 1934. 21, p. 116.

Pfeffer W. — Pflanzenphysiologie II. Leipzig. 1904.
Plateau F. — Bull. Acad. Roy. Belgique. 2e Série. 1872. 34, p. 291.
Prillieux E. — Ann. Sci. Nat. 5e Série. Bot. 1869. 12, p. 125.
Prillieux E. — Bull. Soc. Bot. France. 1869. 16, p. 140.
Prillieux E. — Bull. Soc. Bot. France. 1872. 19, p. 152.
Rein R. — Ztschr. f. Naturwiss. 1908. 80, p. 1.
Sachs J. — Landw. Versuchs. Stat. 1860. 2, p. 167.
Tamman G. — Ztschr. f. phys. Chem. 1898. 25, p. 472.
Tamman G. — The States of Aggregation. New-York. 1925.
Tamman G. — Ztschr. f. anorg. u. allg. Chem. 1935. 222, p. 371.
Tamman G. et Buchner A. — Ztschr. f. anorg. u. allg. Chem. 1935. 222, p. 12.
Du Petit Thouars — *Le Verger Français*. 1817.
Voigtlander H. — Cohns. Reitr. z. Biol. d. Pfl. 1909. 9, p. 359.
Walton J.-H. et Judd R-C. — J. Phys. Chem. 1914. 18, p. 722.
Wright R.-C. et Taylor G-F. — U.S. Dept. Agr. Bull. 1921, p. 916.